

BEST AVAILABLE COPY
METHOD OF ASSAYING ANTI-INTERFERON ANTIBODY AND REAGENT FOR
USE THEREIN

Patent number: WO9513539

Publication date: 1995-05-18

Inventor: NAKAMURA YASUSHI [JP]; USHIZAWA KOJI [JP]

Applicant: DAIICHI PURE CHEMICALS CO LTD [JP];; NAKAMURA
YASUSHI [JP];; USHIZAWA KOJI [JP]

Classification:

- **international:** G01N33/53

- **european:** G01N33/68D2

Application number: WO1993JP01657 19931112

Priority number(s): WO1993JP01657 19931112; JP19920261627 19920930

Cited documents:

 JP58147653

 JP59501873T

Abstract of WO9513539

A method of assaying an anti-interferon antibody and an interferon/anti-interferon antibody complex present in a liquid specimen by utilizing the immuno-reaction between a solid-supported antigen and a liquid specimen, wherein the solid-supported antigen comprises a solid-supported antigen/antibody complex prepared by sequentially binding an anti-interferon antibody and interferon to a solid-phase support. The invention enables unpurified interferon, even if used, to be purified in the step of preparing the solid phase and both of an anti-interferon antibody and an interferon/anti-interferon antibody complex present in the serum to be assayed readily and accurately.

Data supplied from the **esp@cenet** database - Worldwide

PCT

世界知的所有権機関

国際事務局



特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(51) 国際特許分類 5 G01N 33/53	A1	(11) 国際公開番号 WO 95/13539
		(43) 国際公開日 1995年5月18日 (18.05.95)
(21) 国際出願番号 POT/JP93/01657 (22) 国際出願日 1993年11月12日 (12. 11. 93)		
(71) 出願人(米国を除くすべての指定国について) 第一化学薬品株式会社 (DAIICHI PURE CHEMICALS CO., LTD.) [JP/JP] 〒103 東京都中央区日本橋3丁目13番5号 Tokyo, (JP)		
(72) 発明者; および		
(75) 発明者/出願人(米国についてのみ) 中村 埼 (NAKAMURA, Yasushi) [JP/JP] 牛沢幸司 (USHIZAWA, Koji) [JP/JP] 〒130 東京都墨田区東平5丁目5番12号 第一化学薬品株式会社 東京研究所内 Tokyo, (JP)		
(74) 代理人 弁理士 有賀三幸, 外 (ARUGA, Mitsuyuki et al.) 〒103 東京都中央区日本橋人形町1丁目3番6号 共同ビル		
(81) 指定国 U.S., 欧州特許 (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).		
添付公開書類	国際調査報告書	

(54) Title : METHOD OF ASSAYING ANTI-INTERFERON ANTIBODY AND REAGENT FOR USE THEREIN

(54) 発明の名称 抗インターフェロン抗体の定量法及びこれに用いる試薬

(57) Abstract

A method of assaying an anti-interferon antibody and an interferon/anti-interferon antibody complex present in a liquid specimen by utilizing the immuno-reaction between a solid-supported antigen and a liquid specimen, wherein the solid-supported antigen comprises a solid-supported antigen/antibody complex prepared by sequentially binding an anti-interferon antibody and interferon to a solid-phase support. The invention enables unpurified interferon, even if used, to be purified in the step of preparing the solid phase and both of an anti-interferon antibody and an interferon/anti-interferon antibody complex present in the serum to be assayed readily and accurately.

(57) 要約

固相化抗原と被検液との免疫反応を利用する抗インターフェロン抗体の定量法において、固相化抗原として、固相担体に抗インターフェロン抗体、次いでインターフェロンを順次結合せしめて得られる固相化抗原抗体複合体を用いる被検液中の抗インターフェロン抗体及びインターフェロン-抗インターフェロン抗体複合体の定量法。

本発明によれば、未精製のインターフェロンを使用しても固相化工程で精製され、また簡便な操作で正確に血清中の抗インターフェロン抗体及びインターフェロン-抗インターフェロン抗体複合体が定量できる。

情報としての用途のみ

PCTに基づいて公開される国際出願をパンフレット第一頁にPCT加盟国を同定するために使用されるコード

AM	アルメニア	DK	デンマーク	L I	リヒテンシュタイン	P T	ポルトガル
AT	オーストリア	EE	エストニア	L K	スリランカ	RO	ルーマニア
AU	オーストラリア	ES	スペイン	L R	リベリア	RU	ロシア連邦
BB	バルバドス	FI	フィンランド	L T	リトアニア	SD	スードアン
BE	ベルギー	FR	フランス	L U	ルクセンブルグ	SE	スウェーデン
BF	ブルキナ・ファソ	GA	ガボン	L V	ラトヴィア	SI	スロヴェニア
BG	ブルガリア	GB	イギリス	MC	モナコ	SK	スロヴァキア共和国
B J	ベナン	GE	グルジア	MD	モルドバ	SN	セネガル
BR	ブラジル	GN	ギニア	MG	マダガスカル	SZ	スワジラント
BY	ベラルーシ	GR	ギリシャ	ML	マリ	TD	チャード
CA	カナダ	HU	ハンガリー	MN	モンゴル	T G	トーゴ
CF	中央アフリカ共和国	IE	アイルランド	MR	モーリタニア	T J	タジキスタン
CG	コンゴー	IT	イタリー	MW	マラウイ	TT	トリニダード・トバゴ
CH	スイス	JP	日本	MX	メキシコ	UA	ウクライナ
CI	コート・ジボアール	KE	ケニア	NE	ニジェール	UG	ウガンダ
CM	カメルーン	KG	キルギスタン	NL	オランダ	US	米国
CN	中国	KP	朝鮮民主主義人民共和国	NO	ノルウェー	UZ	ウズベキスタン共和国
CZ	チェコ共和国	KR	大韓民国	NZ	ニューカレドニア	V N	ヴィエトナム
DE	ドイツ	KZ	カザフスタン	PL	ポーランド		

明細書

抗インターフェロン抗体の定量法及びこれに用いる試薬

技術分野

本発明はインターフェロン治療時の臨床効果の判定因子として有用な抗インターフェロン抗体を免疫学的手段により簡便かつ高精度に定量する方法に関する。

背景技術

わが国における慢性肝炎はインターフェロン等の抗ウイルス剤の出現によって、その治癒率が増加するとともに、当該インターフェロンの摘要範囲はB型よりC型にまで拡大され臨床評価が高まりつつある。一方、インターフェロンの投与例としては連日又は週3回を3~6ヶ月間等の長期投与が多く行われており、その有効性は投与終了後、GPTの正常化及び正常値の持続を指標として判断されている。しかしながら、近年前述の長期投与にともない抗インターフェロン抗体の出現の報告が増加しつつあり、慢性肝炎のインターフェロン治療時における臨床効果に影響を与える因子の一つと考えられている〔池田ら、肝臓30巻3号(1989)、西村ら、医学のあゆみ、Vol. 130, No. 4 (1992)、イトリら、Cancer, 59: 668 (1987)、イングラダら、Lancet, 1987, II (1987)、大塚ら、J. Neurosurg, 61 (1984)等〕。従って、抗インターフェロン抗体の産生の有無及びその程度は、インターフェロン治療の有効性、安全性を判定するうえでの重要なファクターと考えられる。

この抗インターフェロン抗体の定量方法には、バイオアッセイによる方法〔Ho, Mら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 45 (1959)〕、ウエスタンプロッティングによる方法〔戸田ら、Clin. Exp. Immunol., 66 (1983)〕及びEIAによる方法〔Hennesら、J. Biol. Stand., 15, 231: 1987〕などの報告がある。更に、ELISAによる測定方法が、池田ら〔J. Gastroal. Hepatology, 4: 411 (1989)〕あるいは西村ら〔医学のあゆみ、Vol. 160, No. 4, 1992. 1. 25〕により試みられている。

しかし、上記の方法のうち、バイオアッセイ法は特殊な技術が必要な上、ウィルスを使用するため日常の検査では利用できないことが多く、かつ操作も複雑である。また、ウエスタンブロッティング法は電気泳動を利用するため血清中のインターフェロン抗体の定性的な確認等には重要であるが、簡便な測定法とは言い難い。更に、ELISAによる測定法は簡便性で優れているものの、従来のELISAにおいては固相担体に抗原であるインターフェロンを直接固相化する方法であるため、固相化する抗原を高度に精製する必要があり、かつ被検体中に存在する可能性のある抗原-抗体複合体すべてを同時に測定することができることは言い難い。

従って、本発明の目的は簡便な操作で高精度に抗インターフェロン抗体を定量するための方法を提供することにある。

そこで本発明者らは固相化抗原を用いる免疫学的手段による抗インターフェロン抗体の定量法について種々検討していたところ、抗インターフェロン抗体を予め固相担体に結合させておき、そこに抗原であるインターフェロンを結合させて得られた固相化抗原抗体複合体を固相化抗原として用いれば、固相化する抗原の精製が必要でなく、簡便な操作で抗インターフェロン抗体だけでなく、検体中に存在するインターフェロン-抗インターフェロン抗体複合体も同時に正確に定量できることを見出し、本発明を完成するに至った。

発明の開示

本発明は、固相化抗原と被検液との免疫反応を利用する抗インターフェロン抗体の定量法において、固相化抗原として、固相担体に抗インターフェロン抗体、次いでインターフェロンを順次結合せしめて得られる固相化抗原抗体複合体を用いることを特徴とする被検液中の抗インターフェロン抗体及びインターフェロン-抗インターフェロン抗体複合体の定量法に係るものである。

また、本発明は、固相担体に抗インターフェロン抗体、次いでインターフェロンを順次結合せしめて得られる固相化抗原抗体複合体を含有する抗インターフェロン抗体及びインターフェロン-抗インターフェロン抗体複合体の定量用試薬に係るものである。

図面の簡単な説明

図1は、実施例1における抗インターフェロン- α 抗体濃度と吸光度の関係を示す図である。

発明を実施するための最良の形態

本発明に用いる固相化抗原抗体複合体は、固相担体に抗インターフェロン抗体、次いでインターフェロンを順次結合せしめることにより製造される。ここで固相担体としては、ポリスチレン、ポリプロピレン等のプラスチック製の球状、棒状、プレート状等の担体が挙げられるが、プラスチック製プレートが好ましい。

本発明で用いられる抗インターフェロン抗体としては、インターフェロンを投与して得られる動物由来の抗血清もしくは抗体、又は抗体産生細胞によって產生されたモノクローナル抗体でインターフェロンとの交叉反応をするものであればいずれのものでも良く、例えば、抗インターフェロン- α モノクローナル抗体、抗組み換え型インターフェロン- α モノクローナル抗体、抗インターフェロン- β モノクローナル抗体、抗インターフェロン- γ モノクローナル抗体、又はウサギ、ウマ、ヤギもしくはヒツジ等由来のインターフェロン- α 、インターフェロン- β もしくはインターフェロン- γ のポリクローナル抗体等が挙げられる。

本発明で用いられるインターフェロンとしては一般試薬として市販されているものであればいずれを使用しても良く、例えば、ヒトの白血球画分もしくは株化リンパ芽球の培養遺伝子組み換えを利用した大腸菌法もしくは動物細胞法等から得られる天然型インターフェロン- α 又は組み換え型インターフェロン- $\alpha_{2a, 2b}$ 、線維芽細胞の培養もしくは遺伝子組み換えによる大腸菌法もしくは動物細胞法等から得られる天然型インターフェロン- β 、Tリンパ球の培養等から得られるインターフェロン- γ が使用できる。

固相担体に上記抗インターフェロン抗体及びインターフェロンを結合させるには、常法例えば吸着法、架橋化剤を用いる方法等が挙げられるが、簡便性から吸着法を用いるのが好ましい。吸着法を実施するには、例えば、適当な緩衝液中の抗インターフェロン抗体を固相担体に吸着させ固相化させたのち、抗原であるインターフェロンを同緩衝液下にて固相化された抗体に結合させれば良い。固相化反応における抗インターフェロン抗体の使用量は5～5000U/ml、特に20～3000U/mlが好ましく、インターフェロンの使用量は100～50000

U/ml、特に500～20000 U/mlが好ましい。

本発明法において、緩衝液としてはpH 5～9のリン酸緩衝液、トリス緩衝液、グッド緩衝液等通常使用されるものであればいずれも使用可能である。また、本発明で使用されるブロッキング緩衝液は上記緩衝液に一般的に良く利用されるンゴーラ (Enzyme-mediated immunoassay, Plenum Press, 1985) の報告にあるようにアルブミン1～3%又はゼラチン0.05～0.1%を含むものが好ましい。

本発明の定量法は、固相担体として上記の固相化抗原抗体複合体を使用する免疫学的方法であれば競合法、サンドイッチ法のいずれでもよいが、特にELISAが好ましい。従って、本発明の好ましい実施態様としては、前記固相化抗原抗体複合体に被検液を反応させ、洗浄後標識2次抗体を反応させ、当該固相に結合した標識量を測定することにより、被検液中の抗インターフェロン抗体及びインターフェロン-抗インターフェロン抗体複合体を定量する方法が挙げられる。

本発明に用いられる被検液としては血清、血漿等が挙げられる。

本発明定量方法に用いられる標識2次抗体の標識剤としては、RI、酵素のいずれも挙げられるが、酵素が好ましい。標識に用いられる酵素としては、パーオキシダーゼ、アルカリリフォスファターゼ、 β -ガラクトシダーゼ等が挙げられる。2次抗体としては、ヒトIgGモノクローナル抗体、ヒトIgGポリクローナル抗体等が挙げられる。なお、標識2次抗体は市販されているものを用いることができる。

これらの標識酵素種に対応する発色用の反応基質類としては、パーオキシダーゼではo-フェニレンジアミンのほかに良く知られているものとして2, 2'-アジノージー(3-エチル-ベンツチアゾリヌスルフォネート-6)(ABTS)、o-トルイジン又は3-メチル-2-ベンゾチアゾリヌヒドラゾン(MBTB)などが利用できる。アルカリリフォスファターゼではp-ニトロフェニルfosフェイト、5-ブロモ-4-クロロー-3-インドイルfosフェイト(BCIP)等が利用できる。また、 β -ガラクトシダーゼの場合は、o-又はp-ニトロフェニル- β -D-ガラクトシド(o-, p-NPG)の解裂によ

る遊離o-又はp-ニトロフェニル(o-, p-NP)の利用ができる。また蛍光用の反応用基質としては、パーオキシダーゼではチラミンあるいはp-ヒドロキシフェニル酢酸等が、 β -ガラクトシダーゼではフルオレッセン- β -D-ガラクトシド等が利用できる。更に発光用の基質としては、ペルオキシダーゼではルミノール等が利用できる。

本発明定量方法を実施するには、例えばまず固相化抗原抗体複合体に被検液を加え室温～40℃で1分～2時間インキュベートする。次いで、緩衝液で固相を洗浄した後標識2次抗体を加えて室温～40℃で1分～2時間インキュベートする。再度洗浄後基質溶液を加えて室温～40℃で1分～2時間反応させ、反応停止剤を加えた後、生じた発色、蛍光又は発光を測定する。また、一定時間における吸光度の変化量を測定してもよい。なお、発色反応の停止液としては、硫酸、リン酸等の無機酸類もしくは水酸化ナトリウム等のアルカリ水溶液等を使用することができる。

実施例

次に実施例を挙げて本発明を詳細に説明するが、本発明はこれら実施例に限定されるものではない。

実施例1

ポリスチレンマイクロタイプレートの各ウエルに14mMリン酸緩衝液pH 7.2溶解した1000IU/ml抗インターフェロン- α 抗体溶液を100 μ lづつ分注し、4℃にて一夜放置させ、吸着させる。このプレートを同緩衝液の3倍量にて洗浄した後1%BSAを含む同緩衝液にてブロッキングを行った後、更に100IU/mlインターフェロン- α 溶液を100 μ l加え抗インターフェロン- α 抗体に結合させ、洗浄後測定用感作プレートとする。この感作プレートの各ウエルに検体100 μ lを加えて37℃で2時間反応させる。洗浄後パーオキシダーゼで標識した0.2 μ g/ml抗ヒトIgGモノクローナル抗体100mlを37℃で2時間反応させ、再度洗浄操作を行い、11mMオルトフェニレンジアミン及び0.02%過酸化水素を含む75mMリン酸-クエン酸緩衝液pH 5.0を加える。室温で10分間反応後、停止液として1N硫酸を100 μ l加え492nmにて吸光度を測定する。

なお、被検体はウサギ抗インターフェロン- α 抗体を健常人のプール血清にて系列希釈したものを使用した。この結果を表1に、また、この結果に基づいて作成した検量線を図1に示す。

表 1

抗インターフェロン- α 抗体濃度 (U/ml)	10	100	1000	10000
吸光度 (A ₄₉₂)	0.054	0.257	0.592	1.020

実施例 2

血清10検体を各々 $100 \mu\ell$ 使用し、実施例1と同様に操作して各血清の吸光度を求めた。この結果を表2に示す。

比較例としてウエスタンブロッティングによる方法を使用し、抗インターフェロン- α 抗体の検出を行った。すなわち、インターフェロン- α を電気泳動し、メンプランフィルターにプロッティングを行ったのち、希釈した被検血清を反応させた。洗浄後、ペルオキシダーゼ標識抗ヒト IgGを反応させ、基質ジアミノペンチジンにより発色させた。発色した被検血清を陽性検体と判定した。判定結果は表2に上記本発明方法の結果とともに示す。

表 2

検体番号	本法(実施例2) 吸光度 A ₄₉₂	ウエスタンブロッティング (比較例)
1	0.141	+
2	0.135	+
3	0.696	++
4	0.210	+
5	0.099	±
6	0.042	-
7	0.047	-
8	0.050	-
9	0.146	+
10	0.102	+

表2より、本発明方法はウエスタンブロッティング法の結果と良好な相関性を示した。

産業上の利用可能性

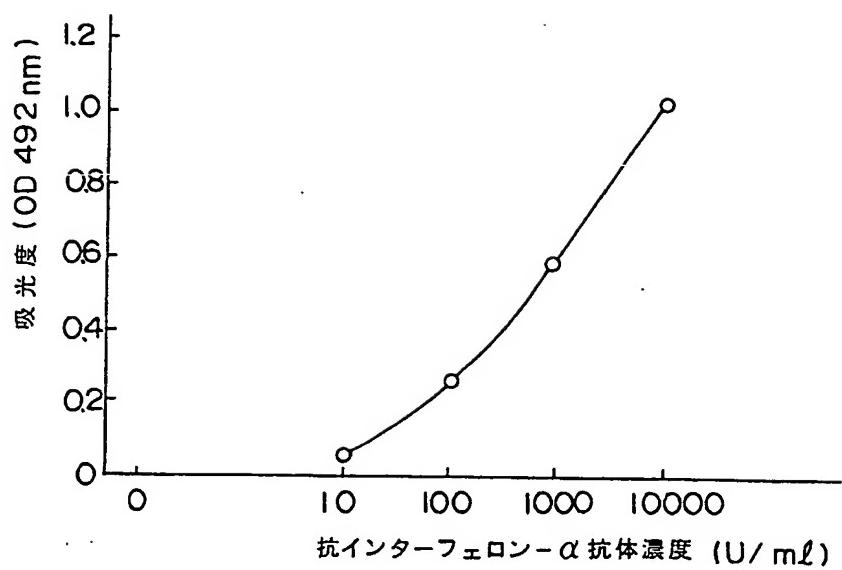
本発明方法は、固相化抗原として固相担体に抗インターフェロン抗体、次いで

インターフェロンを順次結合させたものを用いるため、精製不十分な又は夾雑物を含有するインターフェロンを用いた場合でも、固相系内で精製されることから正確な定量が可能となった。また、固相に抗インターフェロン抗体及びインターフェロンの両者が結合した担体を用いるため、被検液中に存在する遊離の抗インターフェロン抗体だけでなく、インターフェロン-抗インターフェロン抗体複合体をも反応し、抗インターフェロン抗体の正確な測定が可能となった。

請 求 の 範 囲

1. 固相化抗原と被検液との免疫反応を利用する抗インターフェロン抗体の定量法において、固相化抗原として、固相担体に抗インターフェロン抗体、次いでインターフェロンを順次結合せしめて得られる固相化抗原抗体複合体を用いることを特徴とする被検液中の抗インターフェロン抗体及びインターフェロン-抗インターフェロン抗体複合体の定量法。
2. 固相担体に抗インターフェロン抗体、次いでインターフェロンを順次結合せしめて得られる固相化抗原抗体複合体に被検液を反応させ、洗浄後標識2次抗体を反応させ、当該固相に結合した標識量を測定することを特徴とする被検液中の抗インターフェロン抗体及びインターフェロン-抗インターフェロン抗体複合体の定量法。
3. 固相担体に抗インターフェロン抗体、次いでインターフェロンを順次結合せしめて得られる固相化抗原抗体複合体を含有する抗インターフェロン抗体及びインターフェロン-抗インターフェロン抗体複合体の定量用試薬。

図 1



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP93/01657

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int. Cl⁵ G01N33/53

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int. Cl⁵ G01N33/53

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Jitsuyo Shinan Koho	1926 - 1993
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971 - 1993

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	J. Immunol. Methods, Vol. 130, No. 2, (1990) O. Prummer et al. "Filter spot-ELISA for the enumeration of interferon-alpha antibody-secreting cells" p. 187-93 Particularly, refer to abstract and right column, page 188 to left column, page 189	1-3
Y	Res. Discl., Vol. 256, (1985-8) Anon. "Enzyme-immunological test for the determination of interferon antibodies in physiological fluids according to the double antigen sandwich technique" p. 397	1-3
Y	Res. Discl., Vol. 256, (1985-8) Anon. "Enzyme-immunological determination of interferon-specific antibodies in physiological fluids using the double antigen sandwich technique according to the one-step test method" left column, page 389	1-3

 Further documents are listed in the continuation of Box C. See patent family annex.

- * Special categories of cited documents:
- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
- "&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search January 24, 1994 (24. 01. 94)	Date of mailing of the international search report February 15, 1994 (15. 02. 94)
Name and mailing address of the ISA/ Japanese Patent Office Facsimile No.	Authorized officer Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP93/01657

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	J. Immunol. Methods, Vol. 116, No. 2, (1989) T. Jitsukawa et al. "Increased coating efficiency of antigens and preservation of original antigenic structure after coating in ELISA" p. 251-7 Particularly, refer to abstract and page 252	1-3
Y	J. Immunol. Methods, Vol. 119, No. 1, (1989) M. L. overall et al. "Comparison of different ELISAs for the detection of monoclonal antibodies to human interferon-alpha" pages 27 to 33, particularly, refer to abstract and right column, page 28	1-3
Y	J. Immunol. Methods, Vol. 128, No. 1, (1990) T. Taguchi et al. "Detection of individual mouse splenitic T cells producing IFN-gamma and IL-5 using the enzyme-linked immunospot (ELISPOT) assay" p. 65-73 particularly, refer to abstract and right column, page 67, Fig. 1	1-3
Y	Biotechnol. Apl., Vol. 7, No. 2, (1990) S. Cruz et al. "Quantification of human interferon alpha-2b using monoclonal antibodies" pages 132 to 141, particularly, refer to, abstract	1-3
Y	JP, A, 58-147653 (Abbot Laboratories), September 2, 1983 (02. 09. 83), Claim 1; line 5, lower left column to line 5, lower right column, page 5 & GB, A, 2114289 & DE, A, 3303793 & US, A, 4434227 & JP, A, 5-40120	1-3
Y	J. Clin. Microbiol., Vol. 17, No. 3, (1983) S. Giunta et al. "Competitive enzyme immunoassay for detection of complement fixing antibodies in diagnostic virology" p. 507-510	1-3
Y	Chem. Pharm. Bull. (Tokyo), Vol. 36, No. 5, (1988) N. Kobayashi et al. "A solid-phase enzyme immunoassay using Guinea-pig C3 to detect anti Mycoplasma-pulmonis antibody in the sera of infected rats" p. 1803-1807	1-3
Y	JP, A, 59-501873 (Myron J. Block), November 8, 1984 (08. 11. 84), line 7, upper right column to line 8, lower right column, page 2 & WO, A, 8400817 & EP, A, 115532 & US, A, 4582809	1-3
A	J. Immunol. Methods, Vol. 158, No. 2, (1993) P. K. M. Ngai et al. "Protein A antibody-capture ELISA PACE an ELISA format to avoid denaturation of surface-adsorbed antigens" p. 267-276	1-3

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP93/01657

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	Clin. Chem, Vol. 31, No. 2, (1985) Y-S, V. Liu et al. "A monoclonal-antibody enzyme immunoassay for detection of Hepatitis B surface antigen with use of a biotin-avidin system" p. 202-205	1-3
A	J. Clin. Microbiol. , Vol. 15, No. 3, (1982) M. M. Collins et al. "Solid phase complement C-1q binding fluorescence immunoassay for detection of circulating immune complexes" p. 456-464	1-3

A. 発明の属する分野の分類(国際特許分類(IPC))

Int. CL⁵ G01N33/53

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料(国際特許分類(IPC))

Int. CL G01N33/53

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報 1926-1993年
 日本国公開実用新案公報 1971-1993年

国際調査で使用した電子データベース(データベースの名称、調査に使用した用語)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	J. Immunol. Methods, vol. 130, no. 2, (1990) O. Prummer et al. "Filter spot-ELISA for the enumeration of interferon-alpha antibody-secreting cells" p. 187-93 特に抄録及び p. 188 右欄～p. 189 左欄参照	1-3
Y	Res. Discl., vol. 256, (1985-8) Anon. "Enzyme-immunological test for the determination of interferon antibodies in physiological fluids	1-3

 C欄の続きにも文献が列挙されている。 パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

- 「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
- 「E」先行文献ではあるが、国際出願日以後に公表されたもの
- 「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す）
- 「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
- 「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

24. 01. 94

国際調査報告の発送日

15.02.94

名称及びあて先

日本国特許庁(ISA/JP)

郵便番号100

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官(権限のある職員)

柏崎康司

2 J 8 3 1 0

3251

電話番号 03-3581-1101 内線

C(続吉) 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	according to the double antigen sandwich technique" p. 397	
Y	Res. Discl., vol. 256, (1985-8) Anon. "Enzyme-immunological determination of interferon-specific antibodies in physiological fluids using the double antigen sandwich technique according to the one-step test method" p. 389 左欄	1-3
Y	J. Immunol. Methods, vol. 116, no. 2, (1989) T. Jitsukawa et al. "Increased coating efficiency of antigens and preservation of original antigenic structure after coating in ELISA" p. 251-7 特に抄録及び p. 252 参照	1-3
Y	J. Immunol. Methods, vol. 119, no. 1, (1989) M. L. overall et al. "Comparison of different ELISAs for the detection of monoclonal antibodies to human interferon-alpha" p. 27-33 特に抄録及び p. 28 右欄参照	1-3
Y	J. Immunol. Methods, vol. 128, no. 1, (1990) T. Taguchi et al. "Detection of individual mouse splenic T cells producing IFN-gamma and IL-5 using the enzyme-linked immunospot (ELISPOT) assay" p. 65-73 特に抄録及び p. 67 右欄, Fig. 1 参照	1-3
Y	Biotechnol. Appl., vol. 7, no. 2, (1990) S. Cruz et al. "Quantification of human interferon alpha-2b using monoclonal antibodies" p. 132-41 特に抄録参照	1-3
Y	JP, A, 58-147653 (アボット・ラボラトリーズ), 2. 9月. 1983 (02. 09. 83), 特許請求の範囲第1項 及び、第5頁左下欄第5行～右下欄第5行 & GB, A, 2114289&DE, A, 3303793 & US, A, 4434227&JP, A, 5-40120	1-3
Y	J. Clin. Microbiol., vol. 17, no. 3, (1983) S. Giunta et al. "Competitive enzyme immunoassay for detection of complement fixing antibodies in diagnostic virology" p. 507-510	1-3

C(続き) 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	Chem. Pharm. Bull. (Tokyo), vol. 36, no. 5, (1988) N. Kobayashi et al. "A solid-phase enzyme immunoassay using Guinea-pig C3 to detect anti Mycoplasma-pulmonis antibody in the sera of infected rats" p. 1803-1807	1-3
Y	JP, A, 59-501873(ブロック・マイロン・ジェイ), 8. 11月. 1984 (08. 11. 84), 第2頁右上欄第7行～右下欄第8行 & WO, A, 8400817 & EP, A, 115532&US, A, 4582809	1-3
A	J. Immunol. Methods, vol. 158, no. 2, (1993) P. K. M. Ngai et al. "Protein A antibody-capture ELISA PACE an ELISA format to avoid denaturation of surface-adsorbed antigens" p. 267-276	1-3
A	Clin. Chem., vol. 31, no. 2, (1985) Y-S, V. Liu et al. "A monoclonal-antibody enzyme immunoassay for detection of Hepatitis B surface antigen with use of a biotin-avidin system" p. 202-205	1-3
A	J. Clin. Microbiol., vol. 15, no. 3, (1982) M. M. Collins et al. "Solid phase complement C-1q binding fluorescence immunoassay for detection of circulating immune complexes" p. 456-464	1-3

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- BLACK BORDERS**
- IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- FADED TEXT OR DRAWING**
- BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- SKEWED/SLANTED IMAGES**
- COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- GRAY SCALE DOCUMENTS**
- LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- OTHER: _____**

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.